#### ⑩日本国特許庁(JP)

#### ⑩特許出願公表

# 四公表特許公報(A)

 $\Psi 5 - 505459$ 

母公表 平成5年(1993)8月12日

@Int. Cl. \*

識別配号

庁内整理番号

審 査 請 求 未請求

予備審査請求 有

部門(区分) 6(1)

G 01 N 27/327

7235-2 J 7235-2 J

G 01 N 27/30

353 R 353 Z\*

(全 18 頁)

会発明の名称

新規パイオセンサーおよびその使用方法

頤 平3-502803 **204** 

❸②出 顋 平2(1990)12月14日

❷翻訳文提出日 平4(1992)6月12日

**❷国 原 出 顧 PCT/US90/07374** 

**囫**国際公開番号 WO91/09139 **匈国際公開日 平3(1991)6月27日** 

優先権主張

發1989年12月15日發米国(US)到451,671

@発 明 者 ガーパー, マーチン・テイー

アメリカ合衆国46032インデイアナ州、カーメル、ネベル・レイン9

69番

勿出 願 人 ペーリンガー・マンハイム・コ **. ーポレイション** 

アメリカ合衆国46250-0528インディアナ州、インディアナポリ

ス、ビー・オー・ポックス50528 (番地の表示なし)

70代理人

弁理士 青 山 外1名 友

創指 定 因

AT(広域特許), AU, BE(広域特許), CA, CH(広域特許), DE(広域特許), DK(広域特許), ES(広域 特許),FR(広域特許),GB(広域特許),GR(広域特許),IT(広域特許),JP,KR,LU(広域特許),N L(広域特許),SE(広域特許)

最終質に続く

請求の範囲

1. a. 第1 電気絶縁体:

b. 同一の導電性物質から作られ、かつ第1電気絶縁体上に支持

されている実質的に同一の大きさの作用電極および対電係:

c. 第1個気絶縁体および電径に上塗りし、かつ作用電径および

対電極の実質的に等しい表面積を暴露する切欠部を含む第2電気絶

録体:ならびに

d. 切欠部において暴露される電極表面を実質的に被覆し、かつ

酸化還元メディエーターの酸化型、酵素および緩衝液からなる試塞

からなり、

族酸化還元メディエーターの酸化型が酵素、分析物、および酸化

運元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個の電子

を受容するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気酸化によっ

て生じる電流を作用電径表面での酸化還元メディエーターの還元型

の酸化によって確実に限定するのに充分な量であり、

該酵素が酵素、分析物および酸化運元メディエーターの酸化型を

含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

接接衝液が酸化還元メディエーターの還元型よりも高い酸化電位

を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化

型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタ

イプおよび充分な量であることを特徴とする分析物分析装置。

2. 試薬がさらに、試薬中で酸化還元メディエーターを分散させ

るのに充分なタイプおよび充分な量の微鉄品件物質からなる請求項

1記載の装置。

3. 試裏がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらな

る酸化還元メディエーターからなる請求項1記載の装置。

4. 作用電極および対電極の導電性物質がパラジウム、白金、金、

低、チタン、銅、および炭素からなる群から選択される請求項1紀

数の装置。

5. 試糞がさらに、分析物を含有する試料を混濁させるのに充分

なタイプおよび充分な量の界面活性剤からなる請求項2記載の装置。

8. 試薬がさらに、試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充

特表平5-505459 (2)

分な豊の試異安定剤からなる請求項5記載の装置。

- 7. 分折物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの機化 型がヘキサシアノ鉄(皿)鉄塩であり、酵素がグルコースオキシダー ぜである請求項1記載の装置。
- 8. 分折物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化 夏がヘキサシアノ鉄(山)酸塩であり、酢素がグルコースオキシダー ぜである請求項2記載の装置。
- 9. ヘキサシアノ鉄(皿)酸塩の量が試業1g当たり約0.55~約 3.5ミリモルである請求項8記載の装置。
- 10. 分析物がグルコースであり、酸化速元メディエーターの酸 化型がヘキサシアノ鉄(皿)鼓塩であり、緩衝液がリン酸塩であり、 数結晶性物質が数結晶性セルロースおよび微結晶性カルポキシメチ ルセルロースを含み、酵素がグルコースオキシダーゼであり、界面 活性剤がノニオン界面活性剤であり、拡菓安定剤がグルタミン酸塩、 アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースから なる群から選択される睫水項6記載の装置。
  - 2) 試異19当たりリン酸塩級衝波約1,3~約1,9ミリモ
  - 3) 試薬1g当たりグルコースオキシダーゼ約2300~約 10.400単位、
  - 4)試業19当たり微結晶性セルロース約50~約71mg、
  - 5) 試業 19当たり微結晶性カルポキシメチルセルロース約 2-493 29.
  - 6) 試典19当たりTRITON X-100約2~約3 xg、 および
- 7) 試義 1 9当たりグルタミン酸塩約 7 1 ~約 1 0 2 x9 からなる試整

からなることを特徴とするグルコース分析装置。

13. さらに、

e. 作用電径および対電径と電気的に連結され、作用電径の表面 で酸化環元メディエーターの還元型の拡散限定電気酸化を生じるの に充分な電位差を作用電極および対電極間に供給することができる 露するさらなる切欠部を含み、装置がさらに、

1.1. ヘキサシアノ鉄(四)酸塩の量が試薬19当たり約0.55~ 約3.5ミリモルであり、リン酸降裏研修の量の認和14当5:9 約0. 35~約2.6ミリモルであり、微結晶性物質の量が試業19当たり 約36~約228年9であり、グルコースオキシダーゼの量が試象1 9当たり約570単位よりも多く、界面活性剤の量が試業 1 9当たり 約0~約18mgであり、試薬安定剤の量が試薬1g当たり約0~約 200歳9である請求項10記載の益置。

#### 12. a. 第1電気絶縁体:

- b. パラジウムから作られ、かつ第1電気絶縁体上で支持される 実質的に同一の大きさの作用電径および対電径:
- c. 第1写気絶縁体および電径に上塗りし、かつ作用電径および 対電圧の実質的に等しい表面積を暴露する切欠部を含む第2重気絶 経体:ならびに
  - d. 切欠部において暴露される電極表面を実質的に被覆し、かつ
    - 1) 試薬 19当たりヘキサシアノ鉄(皿)酸塩約1.1~約1. 5ミリモル.

富原:ならがに

1. 作用電極および対電極と電気的に連結し、作用電極表面での 酸化運元メディエーターの運元型の酸化によって生じる拡散限定電 流を勘定することができる計量器 からなる請求項1貯蔵の装置。

14. さらに、

- e. 作用電便および対電優と電気的に連結され、作用電優の表面 で酸化還元メディエーターの還元型の拡散限定電気酸化を生じるの に充分な電位差を作用電極および対電極間に供給することができる 電源:ならびに
- 1. 作用電極および対電極と電気的に連結し、作用電極表面での 酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって生じる拡散限定電 流を創定することができる計量器

からなる請求項で記載の装置。

1.5、第2電気絶縁体がさらに作用電径および対電径の一部を基

- 特表平5-505459 (3)
- 対電極と電気的に連結され、 を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、
  - 度級衝液が酸化還元メディエ 特技中 考元型よび ち高い数分 電位を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な費である
  - ことを特徴とする、作用電低および対電極を有し、かつ分析物を劇 定する電気化学的装置のための試業。
  - 17. 試菓がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる酸化理元メディエーターからなる請求項18記載の試賞。
  - 18. さらに、試集中で酸化還元メディエーターを分散させるの に充分なタイプおよび充分な量の散結晶性物質からなる請求項16 記載の試象。
  - 19. すらに、分析物含有試料を湿潤させるのに充分なタイプおよび充分な量の異面活性剤からなる譲収項18記載の試施。
  - 20. さらに、試験を安定させるのに充分なタイプおよび充分な 量の試験安定剤からなる請求項19記載の試象。
  - b. 試薬 19当たりリン酸塩種衝波約1.3~約1.9ミリモル、
  - c. 試験 1 9当たりグルコースオキンダーゼ約2300~約10. 400単位:
  - d. 紅葉 19当たり微結晶性セルロース約50~約71#9;
  - e. 試裏 1 9当たり微結晶性カルボキシメチルセルロース約 2 ~ 約 3 x9 :
  - 「. 試薬 1 9当たりTRITON X − 1 0 0 約 2 ∼約 3 x9 ; および
  - 8. 試験 1 9当たりグルタミン酸塩約7 1 ~約102 mg からなることを特徴とする、作用電優および対電優を育し、かつグ ルコースを測定する電気化学的装置のための試施。

  - 【ここで、酸化速元メディエーターの酸化型は酵素、分析物、および酸化速元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個

- c. さらなる切欠部で作用電極および対電極と電気的に連結され、
  かつ作用電極の表面で酸化還元メディエーターの還元型の拡散(内)定
  電気酸化を生じるのに充分な電位差を作用電極および対電極間に供
  給することができる電車:ならびに
- 1. 作用電極および対電極と電気的に連結し、作用電極表面での 酸化運元メディエーターの運元型の酸化によって生じる拡散限定電 液を測定することができる計量器

からなる請求項12記載の装置。

16.酸化量元メディエーターの酸化型、酵素、および緩衝液からなり、

該酸化理元メディエーターの酸化型が酵素、分析物、および酸化 理元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個の電子 を受容するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気酸化によっ て生じる電流を作用電極表面での酸化運元メディエーターの週元型 の酸化によって確実に限定するのに充分な量であり、

鎮酵素が酵素、分折物、および酸化還元メディエーターの酸化型

- 21.分析物がグルコースであり、酸化運元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(皿)酸塩であり、緩衝液がリン酸塩であり、 数結晶性物質が微結晶性セルロースおよび微結晶性カルボキシメチルセルロースを含み、酵素がグルコースオキシダーゼであり、界面活性剤がノニオン界面活性剤であり、試薬安定剤がグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースからなる群から選択される請求項20記載の試業。
- 22. ヘキサシアノ鉄(皿)酸塩の量が試業1g当たり約0.55~ 約3.5ミリモルであり、リン酸塩級面液の量が試業1g当たり約0. 35~約2.6ミリモルであり、数結晶性物質の量が試業1g当たり 約36~約228 zgであり、グルコースオキシダーゼの量が試業1 g当たり約570単位より多く、界面活性剤の量が試業1g当たり約 0~約18 zgであり、試業安定剤の量が試業1g当たり約0~約2
- 23. a. 試裏19当たりへキサシアノ鉄(II)酸塩約1.1~約1. 51リモル:

の電子を受容するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気酸化 によって生じた電波を作用電極表面での酸化還元メディェータ(4)の 還元型の酸化によって確実に限定するのに充分な量であり、

抜酵素は酵素、分析物、および酸化速元メディエーターの酸化型 を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該緩衝液は酸化速元メディェーターの運元型よりも高い酸化電位 ・ を有し、かつ酵素、分析物、および酸化速元メディェーターの酸化 ・ 型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタ イプおよび充分な量である〕:

- b. 該酵素、分析物、および酸化還元メディェーターの酸化型を含む反応を完了させ;
- c. 次いで、作用電便の表面で酸化還元メディエーターの還元型 の拡散限定電気酸化を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し:
- d. その後、生じる拡散限定電流を測定し:
- e. 液体中の分析物の濃度と電流測定値を関連させる 工程からなることを特徴とする液体中の分析物濃度測定方法。

なる群から選択される請求項27記載の方法。

29. ヘキサシアノ狭(皿)酸塩の量がは製1g当たり約0.55~約3.5ミリモルであり、リン酸塩級面液の量がは薬1g当たり約0.35~約2.6ミリモルであり、微結晶性物質の量が試薬1g当たり約36~約228 mgであり、グルコースオキシダーゼの量が試薬1g当たり約570単位より多く、界面活性剤の量が試薬1g当たり約0~約18 mgであり、試薬安定剤の量が試薬1g当たり約0~約2

30. a. 作用電極および対電極の実質的に等しい表面積を被覆し、かつ

試棄 1 g当たりヘキサシアノ鉄(皿)酸塩約 1.1 ~約1.5 ミリモル.

試票19当たりリン酸塩緩衝液約1.3~約1.9ミリモル、 試業19当たりグルコースオキンダーゼ約2300~約10.

試業19当たり微結晶性セルロース約50~約7189、

#### 特表平5-505459(4)

- 25. 試験がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる飲化速元メディエーターを**持ち**事故を2-4月で取りがある。
- 2 6. 試裏がさらに、試集中で酸化速元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な量の微結晶性物質を含む請求項 2 4 記載の方法。
  - 27. 試電がさらに、

試裏との接触によって液体を混濁させるのに充分なタイプおよび . 充分な量の界面活性剤、および

試案を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試象安定剤 を含む請求項26記載の方法。

28. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサンアノ鉄(面)酸塩であり、緩衝液がリン酸塩であり、 酸結晶性物質が微結晶性セルロースおよび微結晶性カルポキシメテ ルセルロースを含み、酵素がグルコースオキンダーゼであり、界面 活性剤がノニオン界面活性剤であり、試蔵安定剤がグルタミン酸塩、 アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースから

試質 1 9当たり微結晶性カルボキシメテルセルロース約2~ 約3 ag、および

試業19当たりグルタミン酸塩約71~約10229 を含む試験と液体を接触させ:

- b. 酵素、分析物、および酸化運元メディエーターの酸化型を含む反応を示了ませ:
- c. 次いで、作用電極の表面で酸化速元メディエーターの還元型 の拡散限定電気酸化を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し:
- d. その後、生じる拡散限定電流を測定し:
- c. 液体中のグルコースの濃度を電流測定値に関連させる 工程からなることを特徴とする液体中のグルコース濃度測定方法。
- 31. a. 第1電気絶縁体:
- b. 同一の導電性物質から作られ、かつ第1電気絶縁体上で支持される実質的に同一の大きさの作用電極および対電後;
- c. 第1電気絶縁体および電極に上塗りし、かつ作用電極および 対電極の実質的に等しい表面限を暴露する切欠部を含む第2電気絶

緑体:および

d. 切欠部において暴露される電極表面を実質的に被覆し、(5)つ 酸化還元メディエーターの還元型、酵素、および緩衝液からなる試 裏からなり、

接酸化理元メディエーターの還元型が辟索、分析物、および酸化 還元メディエーターの還元型を含む反応から少なくとも1個の電子 を供与するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気還元によっ て生じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型 の還元によって確実に限定するのに充分な量であり、

該緩衝液が酸化還元メディエーターの酸化型よりも低い還元電位 を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元 型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタ イプおよび充分な量であることを特徴とする分析物分析用装置。

32. 試塞がさらに、

うなり、

技能化運元メディエーターの運元型が酵素、分析物、および酸化 還元メディエーターの運元型を含む反応から少なくとも1個の電子 を供与するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気酸化によっ て生じる電流を作用電極表面での酸化運元メディエーターの酸化型 の運元によって確実に限定するのに充分な量であり、

抜群衆が辞素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型 を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該緩衝液が酸化還元メディエーターの酸化型よりも低い還元電位 を育し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元 型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタ イプおよび充分な量である

ことを特徴とする、作用電便および対電極を有し、かつ分析物を測定する電気化学的装置のための試賞。

35. きらに、

試料中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプ

特表平5-505459(5)

は裏中で酸化速元メディエーターを分散させるのに充分なタイプ ちよび充分な量の散結晶性物質特表平5-505459 分析物含育試料を返還させるのに充分なタイプおよび充分な量の 界面活性剤、および

試量を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試農安定剤 からなる請求項31記載の装置。

33. **きら**に、

- c. 作用電極および対電医と電気的に連結され、作用電極の表面 で酸化還元メディエーターの酸化型の拡散限定電気還元を生じるの に充分な電位差を作用電極および対電機関に供給することができる 電源: ならびに
- (. 作用電極および対電極と電気的に連結し、作用電極表面での 酸化環元メディエーターの酸化型の環元によって生じる拡散限定電 流を測定することができる計量器 からなる誘攻項31記載の強度。
  - 3.4. 酸化還元メディエーターの還元型、酵素、および緩衝液か

および充分な量の微結晶性物質:

分析物含有試料を湿潤させるのに充分なタイプおよび充分な量の 界面活性剤:および

試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤 からなる請求項34記載の試験。

36. a. 作用電極および対電極の実質的に等しい表面限を被復 し、かつ酸化還元メディエーターの還元型、酵素、および緩衝液を 含む試薬と液体を接触させ

[ここで、酸化還元メディエーターの還元型は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応から少なくとも1個の電子を供与するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気酸化によって生じた電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって確実に限定するのに充分な量であり、

族群衆は群衆、分析物、および酸化還元メディェーターの還元型 を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

攻緩衝波は酸化還元メディエーターの酸化型よりも低い還元電位

を育し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分な(音)
イブおよび充分な量である];

- b. 鎮酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を 含む反応を完了させ:
- c. 次いで、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの酸化型 の拡散限定電気還元を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し;
  - d. その後、生じる拡散限定電流を測定し;
- e. 液体中の分析物の濃度と電流測定値を関連させる 工程からなることを特徴とする液体中の分析物濃度測定方法。
  - 37. 試裏がさらに、

試裏中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプ および充分な量の微結晶性物質、

分析物含有試料を温潤させるのに充分なタイプおよび充分な量の 界面活性剤、および

試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤

含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

・該援衝液が酸化速元メディエーターの選元型よりも高い酸化電位を育し、かつ酵素、分析物、および酸化運元メディエーターの酸化型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量であることを特徴とする分析物分析装置。

- 39. 試験がさらに、試験中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な量の微結晶性物質からなる請求項38記載の装置。
- 40. 試費がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる酸化通元メディエーターからなる請求項38記載の装置。
- 41. 作用電極および対電極の導電性物質がパラジウム、白金、金、服、チタン、解、および炭素からなる群から選択される請求項38記載の装置。
- 42. 試象がさらに、分析物含有試料を返還させるのに充分なタ イプおよび充分な量の界面活性剤からなる請求項39記載の装置。
- 43.試菓がさらに、試菓を安定化させるのに充分なタイプおよ

を含む請求項36記載の方法。

- 38. a. 第1 電気絶縁体: 特表平5-505459
- b. 同一の導電性物質から作られ、かつ第1電気絶縁体上で支持 されている作用電極および旅作用電極よりも小さい対電極:
- c. 第1電気絶縁体および電極に上塗りし、作用電極よりも小さい対電極の表面限を暴露する切欠部を含む第2電気絶縁体:および
- d. 切欠部において暴露された電極表面を実質的に被覆し、かつ 酸化還元メディエーターの酸化型、酵素、および緩衝液からなる試 素

からなり、

接触化還元メディエーターの酸化型が酵素、分析物、および酸化 還元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個の電子 を受容するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気酸化によっ て生じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型 の酸化によって確実に限定するのに充分な量であり、

**該酵素が酵素、分析物および酸化運元メディエーターの酸化型を** 

び充分な量の試裏安定剤からなる請求項42記載の装置。

- 4.4.分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸 化型がヘキサシアノ鉄(回)酸塩であり、酵素がグルコースオキシダ ーゼである調求項3.8.記載の装置。
- 4 5. 分折物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサンアノ鉄(皿)酸塩であり、酵素がグルコースオキシダーゼである請求項39記載の装置。
- 46.分行物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(四)酸塩であり、緩衝液がリン酸塩であり、微結晶性物質が微結晶性セルロースおよび微結晶性カルボキシメチルセルロースを含み、酵素がグルコースオキンダーゼであり、界面活性剤がノニオン界面活性剤であり、試菓安定剤がグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースからなる群から選択される請求項43記載の装置。

47. さらに、

e、作用電径および対電径と電気的に連結され、かつ作用電極の

特表平5-505459 (7)

表面で酸化還元メディェーターの還元型の拡散限定電気酸化を生じるのに充分な電位型を作用電極および対電機間に供給すること(事)できる電源:および

1. 作用電極および対電極と電気的に連結し、かつ作用電極表面 での酸化運元メディエーターの運元型の酸化によって生じる拡散限 定電流を測定することができる計量器

からなる請求項38記載の装置。

48. a. 作用電極よりも小さい対電極の表面積を被覆し、かつ酸化還元メディエーターの酸化型、酵素、および緩衝液を含む試費と液体を移動させ

[ここで、酸化還元メディエーターの酸化型は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個の電子を受容するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気酸化によって生じた電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって確実に限定するのに充分な量であり、

**篠酵素は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型** 

48記載の方法。

51、試薬がさらに、

試業との接触によって液体を湿潤させるのに充分なタイプおよび 充分な量の界面活性剤、および

試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤 を含む請求項50記載の方法。

52.分析物がグルコースであり、酸化運元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(皿)酸塩であり、緩面液がリン酸塩であり、 微結晶性物質が微結晶性セルロースおよび微結晶性カルボキシメデルセルロースを含み、酵素がグルコースオキシダーゼであり、昇面活性剤がノニオン界面活性剤であり、試菓安定剤がグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースからなる群から選択される精水項51記載の方法。

53. a. 第1超気絶縁体:

b. 同一の導電性物質から作られ、かつ第1電気絶縁体上で支持される作用電極および旅作用電極よりも小さい対電極;

を含む反応を軽謀するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

接続前波は酸化速元メディ<del>工特表 TP 速元電 200 事 TB 201 電位</del> を育し、かつ酵素、分析物、および酸化運元メディエーターの酸化型を含む反応を酵素が触媒するpH を提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量である〕:

- b. 攻跡業、分析物、および酸化選元メディエーターの酸化型を 含む反応を充了させ;
- c. 次いで、作用電極の表面で酸化運元メディェーターの運元型 の拡散限定電気酸化を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し:
  - d. その後、生じる拡散限定電流を測定し:
- e. 液体中の分析物の濃度と電流剤定値を関連させる 工程からなることを特徴とする液体中の分析物濃度剤定方法。
- 49. 試験がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる酸化塩元メディエーターを含む請求項48記載の方法。
- 50. 試棄がさらに、試棄中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な量の微結晶性物質を含む請求項
- c. 第1電気絶縁体および電極に上塗りし、かつ作用電極よりも 小さい対電極の表面積を暴露する切欠部を含む第2電気絶縁体;お
- d. 切欠部において暴露される電極表面を実質的に被覆し、かつ 酸化還元メディエーターの還元型、酵素、および緩衝液からなる試 . 裏からなり、

接酸化還元メディエーターの還元型が酵素、分析物、および酸化 還元メディエーターの還元型を含む反応から少なくとも1個の電子 を供与するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気還元によっ て生じる電流を作用電価表面での酸化還元メディエーターの酸化型 の還元によって確実に限定するのに充分な量であり、

該酵素が酵素、分析物、および酸化還元型メディエーターの還元型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

接続衝液が酸化還元メディエーターの酸化型よりも低い還元低位 を育し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元 型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタ

特表平5-505459 (8)

イブおよび充分な量であることを特徴とする分析物分析装置。

54.試薬がさらに、

(8)

試験中で酸化速元メディエーターを分散させるのに充分なタイプ および充分な量の数結晶性物質、

分析物含有試料を混測させるのに充分なタイプおよび充分な量の 界面活性剤、および

試象を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤 からなる請求項53記載の装置。

55. きらに、

- e. 作用電便および対電便と電気的に連結され、かつ作用電極の 表面で酸化還元メディエーターの酸化型の拡散限定電気還元を生じ るのに充分な電位差を作用電極および対電極間に供給することがで きる電量:および
- f. 作用電極および対電極と電気的に連結し、作用電極表面での 酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって生じる拡散限定電 液を測定することができる計量器

含む反応を完了させ;

- c. 次いで、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの酸化型 の拡散限定電気運元を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し:
- d. その後、生じる拡散限定電流を副定し;
- e. 液体中の分析物の濃度と電流測定値を関連させる 工程からなる液体中の分析物濃度測定方法。
  - 57、試薬がさるに、

試棄中で酸化理元メディエーターを分散させるのに充分なタイプ および充分な量の微結晶性物質、

試薬と接触させることによって液体を混高させるのに充分なタイプ および 充分な量の界面活性剤、および

試料を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤からなる請求項58記載の方法。

からなる請求項33記載の装置。

56. a. 作用電便よりも小さ特表電視の表面的を放揮 5、9かつ 酸化運元メディエーターの運元型、酵素、および緩衝液を含む試業 と液体を接触させ

[ここで、酸化還元メディエーターの還元型は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応から少なくとも1個の電子を供与するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気還元によって生じる電流を作用電低表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって確実に限定するのに充分な量であり、

該酵素は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を触媒するのに充分な量であり、

譲載面液は酸化還元メディエーターの酸化型よりも低い還元電位 を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元 型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタ イプおよび充分な量である〕:

b. 該酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を

#### 朝 細 書

新規パイオセンサーおよびその使用方法

## 関連出願相互参照

本出願は1989年12月15日に出願した米国特許出願第07 /451.671号の一部機械である。

#### 発明の分野

本発明は、一般に、液中の分析物濃度測定に関し、さらに詳細には、このような測定に使用するための電流満定パイオセンサーに関する。

#### 発明の背景

パイオセンサーは新しくない。液中の種々の分析物の濃度の剤定におけるそれらの使用も知られている。

ナンカイら(Nankai et al.) (1988年12月31日に公開されたWO88/07832) は、グルコース含有液モグルコースオキンダーゼおよびヘキサンアノ鉄(皿)酸カリウムと接触させる電流

適定パイオセンサーシステムを開示している。グルコースを酸化し、
ヘキサシアノ鉄(皿)酸塩をヘキサシアノ鉄(皿)酸塩に還元する (S)に
の反応はグルコースオキシダーゼによって触媒される。) 2分後、
電位を印加し、ヘキサシアノ鉄(皿)酸塩からヘキサシアノ鉄(皿)酸
塩への再酸化によって生じる電流を得る。 狭電位を印加して飲砂後
に得られる電流値は液中のグルコースの適度と関連する。

ナンカイらが電位の印加前にグルコースおよびへキサシアノ鉄 (III)酸塩の反応を完全に行う方法を開示しているので、この方法を 電流適定測定の「終点」法と称する。

ナンカイらはグルコースオキンダーゼおよびヘキサシアノ鉄(III) 酸カリウムを不穏ナイロンメッシュ上に保持するシステムを開示し ている。該メッシュは作用電性、対電極および参照電極と接触する 、 ように配置される。対電極および参照電極の合計表面積は作用電極 の2倍である。

ウォゴマン(<u>Wosoman</u>)(1986年12月30日に公開されたE P0206218)は、異なる導電性物質から作られる2つの電極

対電極が作用電極より長い二電極システム。

電気化学技術分野における従来の識者は、バイオセンサーが、作用電極および対電極が実質的に同一の大きさであり(または対電極が作用電極よりも小さく)、同一の導電性物質から作られる二電極システムを含み得ることを提案していない。

#### 発明の概要

本発明は、新規バイオセンサー(電気化学的装置)およびその使用 方法である。該バイオセンサーは、同一の導電性物質から作られ、 かつ第1電気絶縁体に貼付された実質的に同一の大きさの作用電便 および対電極を含む。作用電優および対電極の実質的に等しい表面 膜を暴露する切欠部を含む第2電気絶縁体を電優に上塗りする。

試業は該切欠部に添加される。該試費は切欠部において暴露される電極表面を実質的に被覆し、酸化運元メディエーター、酵素および暖衝液を含む。

分析物含有試料を該試業に添加すると、酸化還元メディエーター は還元される(少なくとも1個の電子を受容する)かまたは酸化され 特表平5-505459 (9)

を有するパイオセンサーを開示している。例えば、陽極は白金のような陽極材料から形成され、**は特色研究・大型を教料が**必形成される。隔極は酵素で塗布される。好ましい具体例において、塗布された軽便はグルコースを浸透することができるエラストマーで被覆されている。

ポットゲンら(Pottgen et al.) (1988年8月21日に公開されたWO89/08713) は、電極が同一の貴金属から作られるが、該電極の一方(疑参照電極と称する)が他方(作用)電極よりも長い二電極パイオセンサーの使用を開示している。

電気化学技術分野における従来の厳者は以下のタイプのバイオセンサーを提客している:

- 1)作用電極が参照電極(例えば、銀/塩化銀)に対して照合され、 対電極が電流の流れのための手段を提供する三電極システム:
- 2) 作用電極および対電極が異なる厚電性物質から作られる二電 極システム: ならびに
  - 3)作用電極および対電極が同一の導電性物質から作られるが、

る(少なくとも1個の電子を供与する)かいずれかである反応において分析物、酵素および酸化還元メが沈殿する。通常、この反応において、分析物は酸化され、酸化還元メディェーターは還元される。この反応(ここで、分析物が酸化され、酸化還元メディェーターが還元される)が許丁した後、該電極間に電位差が印加される。対電極での酸化還元メディェーターの酸化型の量および印加された電位差は作用電極の表面で酸化還元メディェーターの還元型の拡散限定電気酸化を生じるのに充分でなければならない。短時間遅延の後、酸化還元メディェーターの還元型の電気酸化によって生じる電流を測定し、観察された電流は試料中の分析物の量と関連される。

試業が、作用電便表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって、電気酸化中に生じる電流を確実に限定するのに充分な量の酸化還元メディエーターの酸化型を含む場合、同一の導電性物質から作られた実質的に同一の大きさの2つの電極だけが必要であるのが重要である。

作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によっ

て限定されるべき電気酸化中に生じる電流について、対電極の表面での酸化還元メディエーターの酸化型の量は常に作用電極の表面()の酸化還元メディエーターの違元型の量を超えなければなっない。

#### 図面の簡単な説明

第1図は試費およびメッシュ被覆を除く本発明パイオセンサーの 好ましい具体例の略平面図である。

第2図は試嚢およびメッシュ被覆を含む第1図の線2-2に沿った本発明のパイオセンサーの略正面図である。

第3図はメッシュ被覆を含む本発明のパイオセンサーの行ましい 具体例の略平面図である。

#### 発明の詳細な説明

第1図~第3図をきらに詳細に引用して、本発明のパイオセンサーの現在の钎ましい具体例を示す。

バイオセンサー1は第1および第2電気絶縁磨2および3からなる。いずれの有用な絶縁材料も適切であろう。典型的には、ビニルポリマーおよびポリイミドのようなブラスチックが望ましい電気的

貴金属よりも空気酸化され易いので好ましくない。好ましくは、電 怪4 および5 は厚さ約0.1 ミクロンであり、基材7 は厚さ約25 ミクロンである [コータルズーアンダス・パーフェーマンス・フィ ルムズ・イン・カリフェルニア・アンド・サウスウェール・テクノ ロジィズ、インコーポレイテッド(Courtalls-Andus Perforance Files in California and Southwall Technologies, Inc.)か ら商業的に入手可能) (第2図)。

電価 4 および 5 は一方の電便での電気化学的事象が他方の電優での電気化学的事象を妨害しないように充分に難されなければならない。電価 4 および 5 の間の好ましい距離は約 1.2 ミリメーター(##)である。

好ましい具体例において、基材でに貼付された電優4 および5 は リールから織り出されず、無溶融接着剤(示されていない)の使用に よって暦 2 に付着される。また、電価4 および5 は平行に配置され て暦 2 の一方の嬬部から他の機部まで伸びているのが好ましい(第 1 図)。 および構造的特性を提供する。

第1回~第3回に示すバイオ 特表 平ち - 95 9 を 45 9 間 して充分に可接性であり、かつ同時に、最終バイオセンサーに有用な関きを与えるのに充分に関い材料の選択を必要とする材料のロールから製造される塊であることが意図される。

層 2 および 3 はいずれの有用な厚さであってもよい。好ましい具体例において、層 2 は厚さ約 3 6 0 ミクロンであり、層 3 は厚さ約 2 5 0 ミクロンである。

作用電便4 および対電便5 は好ましくはポリイミドのような絶縁 材料の基材7上に配置され、層2 に貼付される前に電極を引き裂く 可能性を低下させる。作用電便4 および対電便5 は実質的に同一の 大きさであり、肉一の導電性物質から作られる。使用し得る導電性 物質の例は、パラジウム、白金、金、銀、炭素、チタン、および飼 である。食金属は、より一定の再現可能な電便表面積を提供するの で好ましい。パラジウムは、より酸化しにくい食金属の1つであり、 かつ相対的に安価な食金属であるので好ましい。銀は、上記の他の

地縁層3は無溶離接着剤(示されていない)の使用によって層2な うびに電極4 および5の上部に固着される。層3は、試薬ウェル9 を定義し、かつ電極4 および5の実質的に等しい表面積10を暴露 する切欠部8を含む。

好ましい具体例において、切欠部8は4mm×6mmであり、電便4 および5は各々幅1、5mmである。したがって、2つの電便の各々 について表面積約8mmが品籍される。

また、パイオセンサー1は、作用電極および対電極と電気的に連結している電源(示されていない)ならびに作用電極および対電極と電気的に連結している電流計(示されていない)も含む。

パイオセンサー試業 1 1 (第 2 図)は電極 4 および 5 の暴露表面 1 0 の実質的に全てを被復するように、好ましくは該電極間の層 2 の 暴露表面を被復するようにウェル 9 中に配置される。

最小限、試験11は酸化運元メディエーターの酸化型、酵素および緩衝液を含む。 装酸化運元メディエーターの酸化型は、酵素、分析物、および酸化運元メディエーターの酸化型を含む反応から少な

くとも1個の電子を受容するのに充分なタイプのものでなければならない。 (酸化還元メディエーターなる活は電気化学的可逆的物化 一運元反応を受けることができるメディエーターを意味する。) 該 酵素は酵素、分析物および酸化還元メディエーターの酸化型を含む 反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量でなければならない。 該級衝波は、酵素、分析物および酸化還元メディエーターの酸 化型を含む反応を該酵素が触媒するpHを提供し、維持するのに充 分なタイプのものおよび充分な量でなければならない。

一般的に、分析物含有試料を試験に添加すると、以下に示すとおり該分析物が酸化され、該酸化量元メディエーターの酸化型が還元される:

分析物 + 酸化運元メディエーター 呼素 (還元型) (酸化型)

分析物 + 酸化還元メディエーター (酸化型) (通元型)

上記反応は完了させられる。 [完了は、分析物濃度を作用電極の表面での酸化還元メディェーターの還元型の酸化によって生じる拡散

酸化還元メディエーターを使用することによって、および拡散限定 電気酸化中に生じる電流を作用電極での酸化還元メディエーターの 還元型の酸化によって確実に制限するのに充分な量の酸化還元メディ エーターの酸化型を試異11に供給することによって適足される。 作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって 限定されるべき電気酸化中に生じる電流について、対電極の表面で の酸化還元メディエーターの酸化型の量は、常に作用電極の表面で の酸化還元メディエーターの適元型の量を超えなければならない。

以下に記載するように、試棄が過剰の酸化還元メディエーターの 酸化型を含む場合、作用電極および対電極は実質的に同一の大きさ であってよく、かつ同一の導電性物質から作られてよい。実質的に 同一の大きさであり、かつ同一材料から作られる電極の利用能はパ イオセンサーを製造するために重要な長所を表す。

試集のさらなる必要条件は使用される緩衝液が酸化還元メディエーターの還元型よりも高い酸化電位を育しなければならないということである。

# 特表平5-505459 (11)

限定電流と関連させるのに充分な分析物、酵素、および酸化運元メ ディエーター(酸化型)を含む反特表可能を 4.5.065000年度 日た 後、電源(例えば、バッテリー)は電圧間に電位量を印加する。電位 差を印加する場合、対電極での酸化運元メディエーターの酸化型の 量および電位差は作用電極表面での酸化速元メディエーターの運元 型の拡散限定電気酸化を生じるのに充分でなければならない。作用 電極表面での酸化運元メディエーターの運元型の酸化によって生じ る拡散限定電流を電流針によって測定する。

到定された電流は以下の必要条件が満足される場合に試料中の分析物の濃度に正確に関連され得る:

- 1)酸化還元メディエーターの還元型の酸化速度が作用電極の表面に対する酸化還元メディエーターの還元型の拡散速度によって左右される: および
- 2)生じた電流が作用電極の表面での酸化還元メディエーターの 還元型の酸化によって限定される。

本発明の装置において、これらの必要条件は、容易に可逆できる

使用される酵素のタイプは測定されるべき分析物に依存するであろう。例えば、グルコースが測定されるべき分析物であるならば、グルコースオキシダーゼが酵素として使用されてよい。コレステロールが測定されるべき分析物であるならば、コレステロールオキシダーゼが酵素として使用されてよい。

前記説明のように、酸化運元メディエーターは容易に可逆できなければならず、酸化運元メディエーターの酸化型は酵素、分析物および酸化運元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個の電子を受容するのに充分なタイプでなければならない。例えば、グルコースが創定されるべき分析物であり、グルコースオキシダーゼが酵素である場合、ヘキサシアノ族(皿)酸塩またはキノンが酸化運元メディエーターの酸化型であってよい。

本発明によって個々の分析物を測定する際に使用してよい酵素および酸化週元メディエーター(酸化型)の他の例を下記第1表に示す。

特表平5-505459 (12)

第1表に示した例のいくつかにおいて、反応触線として、少なく とも1つのさらなる酵素が使用を受平さた。(第2) 各項元(9:例の いくつかは、酸化理元メディエーターの酸化型への電子移動を促進 するさらなるメディエーターを利用してよい。さらなるメディエー ターは、酸化理元メディエーターの酸化型よりも少ない量で試験に 供給されてよい。

20秒以内で、グルコース、グルコースオキシダーゼおよびヘキサシアノ鉄(皿)酸塩を含む反応の完了を達成するであろう試験を提供する。試験 1 2当たり約 2 × 1 0 \*単位以上のグルコースオキシダーゼでは、 該試業は製造するのに不必要により多くの費用がかかる。

2,8-0700-1,4-4//+/>

フェナジンメトスルフェート

へキャンアノ紋(司)製造またはフォナジンメテスチンメート

リボ型ロットーは、 ゲリカロールチナーは、および ゲリカロールーの一リン製ホキングーと

くキシアン教(目)製造

trac

コンスチロールエステラーゼ、コンステロールオキンダーゼ

101.コレスチロール

~◆◆シケノ数(目)倒型

くチャクレン双(m)製造、 レッナジンボースチンェート、 レッナジング・ステンェート

NATE FOゲナーゼおよび ジアホラーゼ

ジアホラーゼ

LMF ドロゲナーゼ

MMオキンダー大

きらばるノディエーター

東(た選元メディエーター(操作型)

K

SFE.

くキャッケン教(目)報為くキャッケン教(田)報告

BLC

コフスチローケドスチャーボ、コフスチローケキャンチーボ

TAD-AFEFBY+-4, ULG UTA9-4

JA3-7

の試薬組成物に関する。)

(12)

|-メトキシーフェナジンメトスルフェート

フェニレンジナミン

743-4444-4-K KJAKV4444-4

アチアン製キキングーボ

い トパン配換

14-64

**ピリルピン** 

~キャシアノ数(目)製造

または

へキシケノ数(日)製造、 レュナジンエトスチンュート、 フェナジンメトスキンュート

試集中の必要な酸化還元メディエーターの酸化型の有効量は測定 しようとする分析物の濃度範囲によって左右される。グルコース(こ こに記載された)を分析するための試象は、容量約10~約70μ2 のヒト全血の試料中のグルコースレベルを測定するのに充分な酸化 還元メディエーター(酸化型)を含む。電極4および5の間に電位差 が印加される場合、対電極の表面での酸化還元メディエーターの酸 化型の量が作用電極での酸化還元メディエーターの還元型の量を超 えるように充分な酸化還元メディエーターの酸化型を該試異に供給 しなければならない。

酸化塩元メディエーター(酸化型)の量の上限は、通常、試薬中の

ノディエーターの溶解度および分散性に依存するであろう。グルコースアッセイ用バイオセンサーによって例示される本発明に関する 試象は、好ましくは、試象中に酸化還元メディエーターを分散させ るのに充分なタイプおよび充分な量の微結晶性物質を含む。

酸化還元メディエーターを分散させるであろう散結晶性物質の例は、微結晶性セルロース、デキストラン、およびキチンである。グルコースオキンダーゼおよびヘキサシアノ鉄(回)酸カリウムを含む好ましいグルコース試集中に含まれる微結晶性物質の量は、約1%(重量:容量)~約4.5%(重量:容量)、好ましくは約1.5%(量量:容量)である。微結晶性物質約1%(重量:容量)以下では、乾燥後、試業が電極表面から落ちるであろう。微結晶性物質約4.5%(重量:容量)以上では、試薬はゲル化する。ヘキサシアノ鉄(回)酸塩およびグルコースオキシダーゼを含むグルコース試薬について、好ましい微結晶性物質はAVICELRCー591F[エフェムシー・コーボレーション(FMC Corp.)から入手可能な微結晶性セルロース]およびNATROSOLー250 M[アクアロン

(Aqualon)から人手可能な数結晶性カルボキシメチルセルロース]
である。試象中のAVICELの置は約1%~約4.2%(置着13)容量)の範囲であってよく、好ましくは約1.4%(重量:容量)である。
試験中のNATROSOLの量は約0%~約0.3%(置量:容量)
の範囲であってよく、好ましくは約0.06%(重量:容量)である。
(これらのパーセンテージは電極表面上で乾燥する前の試験組成物に関する。)

また、試裏は測定されるべき分析物を含有する試料を混濶させる のに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤を含むのが好ましい。

酸、ピペラジンーN.Nーピス(2-エタンスルホン酸)、N-(2-Tel-Till) - 2-Till - 2-

試集は、さらに、試験を安定させるのに充分なタイプおよび充分 な量の試象安定剤を含むのが好ましい。該試象安定剤は酵素を安定 特表平5-505459 (13)

例えば、グルコース含有ヒト全血は科分析用試験において、接界面活性剤はノニオン界面活性剤で特表型ですまられて動産の存在し得る。 性剤的の%(重量:容量)~約0.3%(重量:容量)が存在し得る。 界面活性剤的0.3%(重量:容量)以上では、赤血球が溶血し始める。グルコース試験中の好ましい界面活性剤は好ましい濃度が約0.05%(重量:容量)のTRITON X-100[シグマ・ケミカル・コーポレーション(Signa Chemical Corporation)から人手可能] である。(これらのパーセンテージは電極表面上で乾燥する前の試 素組成物に関する。)

酵素機能について適足なpHを提供し、かつ酸化還元メディェーターの還元型よりも高い酸化離位を育するという前記必要条件を適足するいずれの緩衝液も使用し得る。

酵素グルコースオキンダーゼを使用するグルコース試戴に関する
.
このような緩衝液の例は、リン酸塩、クエン酸塩(クエン酸塩は試 薬を安定させるのを助ける)、「良」緩衝液(例えば、2-(N-モ ルホリノ)エタンスルホン酸、N-(2-アセトアミド)イミド二酢

させ、グルコースオキンダーゼを含有するグルコース試数について は、該試象安定列はグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデ キストランおよびトレハロースからなる群から選択され得る。グル コースオキンダーゼを含有する試算について好ましい試験安定剤は 約0%(重量:容量)~約4%(重量:容量)の濃度範囲、好ましくは 約2%(重量:容量)の濃度のグルタミン酸塩(例えば、グルタミン 酸カリウム)である。(これらのパーセンテージは電便表面上で乾燥 する前の試薬組成物に関する。)

酵素グルコースオキシダーゼおよび酸化還元メディエーターの酸 化型としてヘキサシアノ鉄(ロ)酸塩を使用する好ましいグルコース 試菓を作成するブロトコルは以下のとおりである:

工程 1 - pH 6.25の水性リン酸カリウム緩衝液(一塩基性リン酸カリウム 8 0.062 pおよび二塩基性リン酸カリウム 2 6.423 pを含む)0.740 MにNATROSOL-250 M 1.2000 pを添加することによって緩衝液/NATROSOL混合物1 gを(メスフラスコ中で)顕観する。3時間、NATROSOLを複件お

よび膨満させる。

工程 2 - 20分間、AVICEL RC-591 F 14.(94)
00gおよび水504.7750gを撹拌することによってAVIC
Eし混合物を調整する。

工程3 - 綾断液/NATROSOL混合物514.6000gに TRITON X-100 0.5000gを承加することによってT RITON混合物を編製し、15分間技作する。

工程4 - 復控しつつ、適下調斗またはビューレットを用いて合計 AVICEL混合物に合計TRITON混合物を適下する。 添加件丁後、一晩提控し続ける。

工程5- 授拝しつつ、工程4から得た混合物にヘキサシアノ鉄(皿)酸カリウム98.7750gを添加する。(ヘキサシアノ鉄(皿)酸カリウムを一度に少量ずつ加えて添加と同時にヘキサシアノ鉄(皿)酸カリウムを溶解させる。)

工程6~ 20分間、工程5の得られた混合物を撹拌する。

工程7- 水酸化カリウムを添加することによって、工程6から

鉄(皿)酸塩の運元を触媒する酵素(グルコースオキシダーゼ)も含有するであろう。

次いで、試菓11を約50℃で約3分間加無することによって乾燥する。乾燥によって試票の含水量の少なくとも約90%を除去し、この特果、以下の割合の成分を育する好ましい乾燥試棄が得られる:乾燥試棄19当たりへキサシアノ鉄(皿)酸塩約1.1~約1.5ミリモル:試農乾燥による酵素活性75%損失(異常に高い酵素活性損失)を仮定して乾燥試菓19当たりグルコースオキシダーゼ約2.300~約2.600単位、試農乾燥による酵素活性のより典型的な6%損失を仮定して乾燥試菓19当たりグルコースオキンダーゼ約8,600~約9,600単位、および試棄乾燥による酵素活性の損失がないと仮定してグルコースオキシダーゼ約9,200~約10.400単位:乾燥試菓19当たりリン酸塩緩衝液約1.3~約1.9ミリモル:乾燥試菓19当たりNATROSOLー250 M約2~約3mgおよび乾燥試業19当たり入VICEL RC-591 F

特表平5-505459 (14) 得られた混合物のpHを6.25に顕数する。

工程8- 工程6の得られた無特数型がユ5の13・4694 [バイオザイム(Biozyae)からの218.50単位/mg] 9.1533g

工程9~ 工程8の得られた混合物にグルタミン酸カリウム20gを添加し、少なくとも20分間撹拌する。

工程 10- 100ミクロンのシーブパッグを介して、工程 9の 得られた混合物を譲過して如何なる AVICE L 塊をも除去する。 建液は得られた試業組成物であり、これを電極表面に添加し、次い で、乾燥する。

グルコース側定に関する钎ましい具体例において、前記プロトコルによって作成した試験 6 μ & を切欠部 8 によって形成されたウェル 9 に添加する。この試験 1 1 の量は、両電紙上の表面積 1 0 を実質的に被関するであろうし(第 1 図および第 2 図)、約 2 0 秒以内で
元丁させるのに充分な量のヘキサシアノ鉄(図)酸塩、および充分な量の、グルコース(ヒト全血の試料由来)の酸化およびヘキサシアノ

約7 4 mg): 乾燥試菓 1 g当たりグルタミン酸塩約7 1 ~約102 mg : なうびに乾燥試業 1 g当たりTRITON X - 100約2~約3

前記のとおり、配合試棄(乾燥前)の各成分は所定の制限範囲内で 変化し得る。したがって、前記の乾燥したグルコース試菓は以下の 広範囲な成分を含む:乾燥試菓1g当たりへキサシアノ鉄(皿)酸塩 約0.55~約3.5ミリモル;試料乾燥による酵素活性の75%損 失(異常に高い酵素活性の損失)を仮定して乾燥試菓1g当たり約5 70単位を超えるグルコースオキンダーゼ;試料乾燥による酵素活 性のより典型的な8%損失を仮定して乾燥試菓1g当たり約210 0単位を超えるグルコースオキンダーゼ;乾燥試菓1g当たりりン 酸塩約0.35~約2.6ミリモル;乾燥試菓1g当たりNATRO SOL-250 M約0~約15 ag および乾燥試菓1g当たり及 に足し RC-591 F約38~約213 ag (乾燥試菓1g当たり改 は品性物質の合計約36~約228 ag);乾燥試菓1g当たりグルタ ミン酸塩約0~約200 ag;ならびに乾燥試菓1g当たりTRIT ON X-100約0~約18#.

乾燥後、好ましくは、ポリエステルまたはナイロンメッシュ(15) (第2回および第3回)を乾燥試棄の上部に置いて、輸送および管理 中のパイオセンサーからの試棄の損失防止を促進し、試震からヒト 汚染を最小限度にするのを助ける。穴15を含む接着テーブ14に よって本発明装置にメッシュ13を貼付する(第2回および第3回)。 穴15は本発明装置によって測定されるべき分析物を含有する試料 を添加するための標的域である(第3回)。

試養を乾燥し、メッシュを貼付した後、ロール成形パイオセンサーを打抜きによって切り難し、抜パイオセンサーは、1)作用電極および対電極と電気的に連結しており、かつ作用電極の表面での酸化還元メディエーターの還元型の拡散限定電気酸化を生じるのに充分な電位差を作用電極および対電極間に供給することができる電源、ならびに2)作用電極および対電極と電気的に連結しており、かつ上記電位差が印加されると酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって生じる拡散限定電流を副定することができる計量器を接続

て液体試料中の分析物の濃度を測定してよい:

- b)分析物および酸化還元メディエーターの酸化型間の反応を完全に行わせ:
- c)次いで、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの還元型 の拡散限定電気酸化を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し;
  - d) その後、得られた拡散限定電流を測定し:
- e)液体中の分析物の濃度と電流測定値を関連させる。

多くの分析物含有液体を分析し得る。例えば、全血、血清、尿および脳脊髄液のようなヒト体液中の分析物を測定し得る。また、発酵産物中、および環境汚染物を潜在的に含有する環境物質中に見られる分析物を剥定し得る。

ヒト体液、特に全血中に見られる分析物を測定する場合、電極間 に印加された電位差は、約500ミリポルト以下であるべきである。 約500ミリポルト以上の電位差を電極間に印加すると、作用電極 して使用される。

前記計量器は、通常、電流刺動。表平 5 子 (5xQ 5 番用548 のに 適当であり、これによって分析物濃度が提供され、目に見えるよう に表示される。このような電源および計量器の改良は、同時に譲渡 された米国特許第4、963、814号(1990年10月16日発 行)、および米国特許出顧第07/451、212号(1989年1 2月15日出職:1990年11月6許可通知発行:1990年1 1月30日登録料支払)、第07/451、108号(1989年1 2月15日出職:1990年9月24日許可通知発行:1990年 10月31日登録料支払)および第07/451、309号(198 9年12月15日出職)の対象であり、これらの記載は本明細書に 引用記載する。

電源および計量器の面易な電気的連結のために、作用電極および 対電極の部分を暴露するさらなる切欠部(第1図~第3図)がバイオ センサー装置中に提供されるのが舒ましい。

上記パイオセンサー装置を使用して、以下の工程を行うことによっ

表面(パラジウムについて)およびいくつかの血液成分の酸化が耐えられなくなり得、これによって電流の分析物濃度との正確かつ厳格な関連が妨げる。酸化還元メディェーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(四)酸塩である場合の全血試料におけるグルコースのアッセイについて、電極間に約150ミリボルト~約500ミリボルトの電位要を印加して、作用電極の表面での酸化還元メディェーターの還元型の拡散限定電気酸化を達成してよい。好ましくは、電極間に約300ミリボルトの電位要を印加する。

酸化運元メディエーターの運元型の酸化から生じる電流は、電極 間に電位差を印加した約0.5秒~約30秒後のいずれの時にも副 定し得る。約0.5秒未満では、拡散限定電流は達成されなかった。 約30秒後、対流が有意になり、これによって拡散限定電流の別定 を妨げられる。好ましくは、電極間に電位差を印加した約10秒後 に電流を別定し、測定された電流を試料中の分析物濃度と関連させ る。

ヒト全血は料由来のグルコースの好ましい分析方法において、前

記の好ましいグルコース試異に全血20μ0を加える。グルコース およびヘキサシアノ鉄(皿)酸塩の反応を完全に行わせ、これに(+6) でグルコン酸およびヘキサシアノ鉄(肌)酸塩を形成する。この反応 は、通常、完全に行わせるのに短い時間を要し、好ましい具体例に おいては、該反応は約20秒未満で完全に行われる。全血試料の添 加の約30秒後に、電極間に約300ミリボルトの電位差を印加し、 これによって作用電極の表面でヘキサシアノ鉄(肌)酸塩をヘキサシ アノ鉄(皿)酸塩に酸化する。電極に該電位差を印加した約10秒後、 電流を測定し、血液試料中のグルコースの濃度と間速させる。

試料のグルコース濃度は、本発明のパイオセンサーを使用する本 発明の方法によって正確かつ粧格に測定され得る。さらに、ヒト全 血試料を測定した場合、ヘマトクリット効果による誤差は有意では ない。

本発明の変形として、対電極が作用電極よりも小さくてよい。対 電極が作用電極よりも小さい場合、試累11に供給される酸化還元 メディエーターの酸化型の量は増加しなければならない。電流に分

エーターの通元型が触媒量の酵素(例えば、リダクターゼ)の存在下で酸化される液体試料中の分析物濃度のそんでいをするために使用してもよい。分析物、酵素および酸化適元メディエーターの適元型を含む反応が完了に達した後、電極間に電位差を印加する。対電極(この場合、カソードよりもむしろアノード)での酸化適元メディエーターの適元型の量および印加された電位是は、作用電極(この場合、アノードよりもむしろカソード)の表面での酸化週元メディエーターの酸化型の鉱散限定電気還元を生じるのに充分でなければならない。作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の鉱散限定電気還元を生じるのに充分でなければならない。作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の適元によって生じた鉱散限定電流を分析される試料中の分析物濃度と関連させる。

酸化還元メディエーターは容易に可逆できなければならず、試験 11中の酸化還元メディエーターの還元型の量は、電気還元中に生 じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の選 元によって確実に限定するのに充分でなければならない。

また、緩衝液は、酸化運元メディエーターの酸化型の運元電位よ

特表平5-505459 (16) 新物の速度を正確に関連させるための前記必要条件が満足されなければならない: すなわち、 特宏平5-505459

- 1)酸化速元メディェーターの通元型の酸化速度は作用電極の表面に対する酸化速元メディェーターの運元型の拡散速度によって左右され:
- 2)生じた電流は作用電極の表面での酸化還元メディエーターの 還元型の酸化によって限定される
- ので、試験 1 1 中の酸化還元メディエーターの酸化型の量は増加しなければならない。
- 例えば、対電便が作用電極の約半分の大きさである場合にヘキサンアノ鉄(皿)酸塩約2700ナノモルおよびヘキサシアノ鉄(皿)酸塩約900ナノモルの混合物(水20μ程に溶解)は前記必要条件を調足した。

また、本発明は酸化される分析物および触媒量の酵素の存在下で 還元される酸化還元メディエーターによって説明された。しかし、 本発明装置、試薬および方法は、分析物が還元され、酸化還元メディ

りも低い還元電位を有しなければならず、分析物、酵素および酸化 還元メディエーターの還元型を含む反応を抜酵素が触媒するpHを 提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量でなければならな い。これらおよび他の必要条件は還元よりもむしろ酸化される分析 物を測定するための必要条件と似ている。

当業者が本発明を製造および使用し、本発明を実施するための最 良のモードを知り、他の発明および従来の発明と本発明を区別する ことができるほど充分に明瞭かつ簡明に上記説明および図面におい て本発明を記載した。本発明の多くの変形および明白な適用は容易 に考えられるであろうし、これらは以下に請求される発明の範囲内 に含まれることを意図する。

特表平5-505459

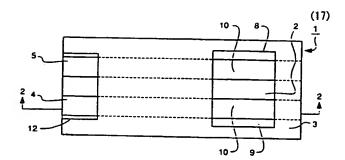


FIG. 1

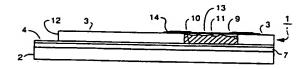


FIG. 2

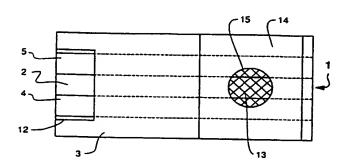


FIG. 3

#### 要 的 &

新規パイオセンサーおよびその使用方法。族パイオセンサーは同一の導電性物質から作られた実質的に同一の大きさの作用電極および対電極を含む。

試象は作用電極および対電極の一部の実質的に等しい表面限を被 ・ 限する。球試器は酸化理元メディエーター、酵素、および緩衝液を 含む。

度試験に分析物含有試料を添加すると、酸化量元メディェーターが還元される(少なくとも1個の電子を受容する)かまたは酸化される(少なくとも1個の電子を供与する)かいずれかである反応において、分析物、酵素、および酸化還元メディェーターが沈設する。一般に、この反応において、分析物は酸化され、酸化還元メディェーターは還元される。この反応(ここで、分析物が酸化され、酸化還元メディェーターが還元される)が完了した後、電極間に軽位差を印加する。対電極での酸化還元メディェーターの酸化型の量および印加された電位差は、作用電極の表面で酸化還元メディェーターの

還元型の拡散限定電気酸化を生じるのに充分でなければなっない。 短時間遅延の後、酸化還元メディエーターの還元型の電気酸化によっ て生じる電流を測定し、観察された電流は該試料中の分析物の量と 関連される。

試案が、作用電極表面での酸化還元メディェーターの還元型の酸化によって、電気酸化中に生じる電流を確実に限定するのに充分な量の酸化還元メディエーターの酸化型を含む場合、同一の導電性物質から作られた実質的に同一の大きさの2つの電極が必要なだけであるのが重要である。

作用電極での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって限定されるべき電気酸化中に生じる電流について、対電極の表面での酸化還元メディエーターの酸化型の量は常に作用電極の表面での酸化還元メディエーターの還元型の量を超えなければならない。

------ PCT/US90/07374



#### 日 祭 男 主 報 会

	PCT/US90/07374
According to Commissions Proper Company proper parties or up near temporar Companyon and	(18
IPC(5) C12Q 1/54; C12H 1/36	110
P C CI - ASS/IA 788 R17	
Corter Comes Brown	
Carto cardo Sentra Sentra Sentra	
" C C	1
U.S. CL. 435/14.258.617	i
Concession from the part of Concession Concession	
so has fines her, o'the Got hyman and professed on the Life	ner Branchag ·
	1
Carreto Comme to Consumerat man work them, spend sections and the sections	servent 1' Sparget to Char Re 11
P.Y US. A. 4.959.305 (Voodrum)	2.5.8-12.14.15.
25 September 1990, see entire document.	19.21-73.25
23 September 1990, see entire document.	
•	29-10.33.35.37
	39.46.50-52.
Y US. A. 4.830.959 (McNeil at al.)	S4.57
: 16 May 1999, see entire document.	· ·
. 10 .my 1939, are entire document.	1-57
•	:
Y 'US. A. 4,758.323 (Davis et al.)	į l
19 July 1988. see entire document.	1
ser! troot and excite document.	1-57
1	• •
T US. A. 6.224.125 (Makamura et al.)	: 1
23 September 1980, see entire document.	1-57
	.1-3/
i	
•	·
•	· 1
<b>:</b>	1
l e	I
* Source Conception of trans processing 15 "T" top pocument	protecting after the angelescope found ages
The same party and published on the same the management of the same and the same an	
"T described which does throw passess as propriet claimings or many the section of the section o	
.O. Semantina captured at the man destationary most emphasis in Common of Charles	
"P" document managed from to the programment from now had "I Per or!	ODFIGURE OPENING: The aboves an account of the control of the cont
N. CIRTIFICATION	
Sate of the Action Commission of the International Source 1 Date of Square of the	- Surrena Secret Second
1	8 APR 1991
- mici 1441 -	en neet
Improper Departure Authority 1	
	im corn ii
	Jack_

特表平 5 — 5 0 5 4 5 9  - ○ OPSERVATIONES WHILE CLEATAN CLAMES WERE FOUND UNBEADCHARALE.  The Administration Wilder Cleatan and here combined in the complete them used Annual USI (1) to the believed of the Annual Cleatan and the complete of the Cleatan and the Cleatan an		10 SHEFT	
Commenced where the control of the c		特表平5-50	5 4 5 9
Commenced where the control of the c	-		
Commenced where the control of the c	!		
Commenced where the control of the c			
Communicated Secretion Secretion from the secretion of Landson Secretion and Secretion of an analytic by a biomensor, classified in class 435, subclass 258 (claims 1-15, 24-13 and 30-73; II. A reagent classified in class 435, subclass [4 (claims 10-23), 34 and 335).		OUND UNITARCHABLE.	
			mage waynests
To the season    Gottevarious which survey or investion is Lacinia!    Process and apparatus for performing process of detection of an analysis by a biosensor, classified in class 435, subclass 288 (claims 1-15, 24-33 and 30-57;    II. A reagent classified in class 435, subclass 14 (claims 10-23, 34 and 35).    A read read of the subclass 10-23, 34 and 35).	Court systems Sections only require to partie of the con-	rmerand aggination that de not comply to the control out ', secondary;	The Street-and requal
The process and apparatus for performing process of detection of an analyty by a biomenor, classified in class 435, subclass 258 (claims 1-15, 24-33 and 30-57;  II. A reagent classified in class 435, subclass 14 (claims 10-22, 34 and 335).  A read read of the control of the c	2 Open regress process Play go department claims	THE STATES IN CONTRACTOR SHAPE SHE RECEIVED IN	
Process and apparatus for performing process of detection of an analyty by a biomemor, classified in class 435, subclass 228 (claims 1-15, 24-13 and 36-57;  II. A respect classified in class 435, subclass 14 (claims 16-23, 34 and 35).  A rest description of the control o	M (3 DESERVATIONS WHERE SHITT OF PRIVERSION IS	LACKINS!	
1 At order dotte of the internet combinated course from cores form, and by the page-page, the electrological course course on making course dotte course of the electrological depth place for minch from cours and constrainty cluster;  .	<ul> <li>I. Process and apparatus for perform by a biosensor, classified in class 24-33 and 36-57;</li> <li>II. A reagent classified in class 435 (classas 16-23, 34 and 35).</li> </ul>	ing process of detection 435, subclass 288 (cl	aims 1-15.
		fo died by the pageoptic, this international Trans. constitute plants;	
10 to required addressed under these name temps used by the conditions. Educationally, that althoughous course oppose is continued in the colorest of a decreased by claim numbers.	2. The resourced additional between trees many and by two case my inventors first mentionsed in the planner of as severated by the	hoom: Comerquerelle, the empressence on the numbers;	orth report in Helmand
* As an increment forms count to control administration of the polithrough on appropriate top, the improvement dispersion for appropriate for the polithrough and the polithrough of the polithrough appropriate for the polit			******************
The other openions and the promote of planets and planets appears.	O 1-4		

第1頁の続き	<u>*</u>			
ூint. Cl.	•	識別記号	Ļ	庁内整理番号
G 01 N	27/28 27/416	3 3 1	Z	7235-2 J
// C 12 M C 12 Q	1/34 1/00 1/26 1/54		E B	7229-4B 6807-4B 6807-4B 6807-4B 7235-2 J

切発明 者 オウクス,エム・ルーアン アメリカ合衆国46234インデイアナ州、インデイアナポリス、チャ ベル・パインズ・ドライブ8510番 @発明者 コスト, ケント・エム アメリカ合衆国46038インデイアナ州、フィッシャーズ、アシュリ イ・プレイス11229番 @発明者 ベイトソン、ジョウジフ・イー アメリカ合衆国46038インディアナ州、フィッシャーズ、イース ト・ナインテイエイス・ストリート6380番 **@**発 明 者 ウオーリング, ビー・ダグラス アメリカ合衆国46256インデイアナ州、インデイアナポリス、シー ブリーズ・ウエイ10216番 ⑦発 明 者 ポールマン, クラウス・ハー ドイツ運邦共和国デーー6823ノイルスハイム、エルフルター・ヴェ ーク1番

G 01 N 27/46 3 3 6 Z

```
【公報種別】特許法第17条第1項及び特許法第17条の2の規定による補正の掲載
【部門区分】第6部門第1区分
【発行日】平成9年(1997)10月14日
```

【公表番号】特表平5—505459 【公表日】平成5年(1993)8月12日 【年通号数】 【出願番号】特願平3—502803 【国際特許分類第6版】 GOIN 27/327

27/28 331 27/416 // C12M 1/34 C120 1/00 1/26 1/54

[FI]

r i j		
G01N	27/30	353 R 0275-2J
	27/28	331 Z 0275-2J
C12M	1/34	E 7804-4B
C12Q	1/00	B 7823-4B
	1/26	7823-4B
	1/54	7823-4B
GO1N	27/30	353 F 0275-2J
	27/46	336 Z 0275-2J

#### 手続補正書

## 8 # 1 2 H I C H

接件扩展管理

こを作の表示

平成03年特許根据5028C3号



1. BEEt 69

平存との関係 特許出数人

名称 ペーリンボー・マンハイム・コーポレイション

3. 代數人

氏名 #羅士 (6214) 曹山 幕



4. 雑形色杂の当代

自発(出版審査財象と同時)

5. 雑型の対象

明日書



(7) 第25頁第5行~第26頁第1行

「したがって、・・・・約18%。」とあるを、

「したがって、乾燥以幕(試象の水分の少なくさも80%が除去されている) における各成分の誰の散装範囲は、上述の好ましい製剤の範囲より広い。」と結 正します。

B. 農東の転開

別紙の通り。

6. 梯正の内容

A. 明都書

(1) 第1頁第2行

「新規パイオセンサーおよびその使用方法!とあるも、

「段化理元メディエーターおよびパイオセンサー」と結正します。

(2) 数5页第2行

「酸化理元ノ」とあるも、「酸化量元メディエーター」と他正します。

(3) 第15頁第12行

「四原単位(単位)」とあるも、「単位」と特定します。

(4) 第18頁第1行

・「カルポキシメチルセルロース」とあるを、

ごヒドロキシメチルセルロ・ス」と補止します。

(5) 第1 9页第1 543~第2 0页图7行

「(例えば、・・・・装石液)」とあるモ、

i(例えば、2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸、N-(2-アセトアミド)-2-イミドニが酸、ピペラジン-N, N'-ピス(2-エタンスルホン酸)、N-(2-アセトアミド)-2-アミノエタンスルホン酸、N, N-ピス(2-ヒドロキシエチル)-2-アミノエタンスルホン酸、N-トリス(ヒドロキシメチル)メチル-3-ブミノエタンスルホン酸、およびN-2-ヒドロキシエチル-ピペラジン N'·2 エタンスルホン酸、およびトリス器療施(2-アミノー2(ヒドロキンメチル)-1、3-プロパンジオールから誘導された緩衝検()」」と格比します。

(6) 第24寅第6寅~第25寅第3行

「乾燥杖薬・・・・約~mg。」とあるを、

「乾燥試薬 10当たりヘキサシアノ鉄(四)酸塩粉0.8~約1.0ミリモル; 数 素能場による財素活性7.5%損失(異常に高い酵素活性損失)モ仮定して乾燥或率 1g当たりゲルコ・スオキシゲ・ゼ約1.300~約1.703単位、試察乾燥に よる酵素活性のより執型的な8%損失を仮定して乾燥試癒1g当たりゲルコース

## 約水の製田

- 1. a. 第1電気地操体;
- b. 同一の専選性特質から作られ、かつ第1電気熱線体上に実持されている変 質的に同一の大きさの作用電響<u>および、参照関係でない</u>対電極:
- c. 第1電気絶象体および電極に上限りし、かつ作用電機および対電極の実質 的に等しい表面収を毎度する切欠部を含む第2電気絶象体;ならびに
- i. 以欠部において暴無される戦域表面を実質的に参照し、かつ酸化起元メディ エーターの酸化型、酸素および細胞核からなる試解からなり。

散豫化基元メディエーターの酸化型が確余、分析物、および酸化基元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個の電子を受容するのに充分セタイプであり、かつ拡散限定性試験化によって生じる電流を作用電極表面での酸化基元メディエーターの還元型の酸化によって確実に規定するのに充分な量であり、

設備素が皆未、分析物および酸化感元メディエーターの酸化型を含む反応も触 鍵するのに充分なタイプおよび充分は象であり、

数級重複が離化速元メディエーケーの適元利よりも高い酸化素位を育し、かつ 酵素、分析物、および酸化速元メディエ、ケーの酸化型を合む反応を酵素が妊娠 するpHを提供し契持するのに充分なタイプおよび支分な量であることを特徴と するpHを提供し契持するのに充分なタイプおよび支分な量であることを特徴と する分析物分析装置。

- 2. は影がさらに、は集中で数化型元メディエーターを分散させるのに充分な タイプおよび充分な益の数結局性物質からなる効求項」記載の装置。
- 3. 試業がさらに、少なくとも1つのさらなる除案およびさらなる酸化還元メディスーチーからなるは求項1記載の装置。
- (1. 作用電極および対電板の導電性物質がパラジウム、白金、金、銀、チタン、 網および以来からなる群から選択される鈴求項【記載の値匹。
- 5、 は集がさらに、分析物を含有する試料を起摘させるのに充分なテイプおよび大分な含の異面活性剤からなる消象項(2記載の装置。
- 6. 試象がさらに、試験を支定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試験 仮定剤からなる請求項5配収の装置。

- 1. 分析物がグルコースであり、砂化退元メディエーターの酸化型がヘキサシ アノ鉄(11)登場であり、資金がグルコースオキシダーゼである雑求祭1配製の袋
- 8. 分析物がグルコースであり、酸化型元メディエーターの酸化型がヘキサシ アノ鉄(ロ)政塩であり、耐味がグルコースオキシダーゼである館攻攻2記録の姿
- 分析物がグルコースであり、硬化運光メディエーターの酸化型がヘキサシ アノ軟(E)隆塩であり、銀面放がリン政塩であり、食給品性物質が最結晶性セル ロースおよび微結品性<u>ヒドロキン</u>メチルセルロ・スを含み、降本がグルコースオ キシダーゼであり、昇山沃性紀がノニオン界面沃性材であり、試薬安定剤がグル タミン敵塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースから なる野から選択される請求項6記載の装置。
- 10. a. 第1電気砲線体;
- b. パラジウムから作られ、かつ第1電気絶縁体上で支持される実質的に同一 の大きさの作用電性、および、多形電話でない対電器:
- c、第1電気絶縁体および電視に上続りし、かつ作用電流および対電板の密管 的に等しい表面積を暴露する切欠形を含む第2個気能量体;ならびに
  - d. 別欠部において暴富される電極表面を実質的に被覆し、かつ
    - 1) **以収1g当たりヘキサシアノ飲(TD)**取塩的<u>C.8</u>~約<u>1.0</u>ミリモル、
    - 2) 試売1g当たりリン雑塩経街旅約<u>1,0</u>~約<u>1,3</u>ミリモル、
  - 3) 試施1g当たりグルコースオキシダーゼ約<u>1.300</u>~約<u>8.800</u>単
  - 4) 以来1g当たり役む昆性セルロース約38~約48m。
  - 5) 武栗1g当たり質約品性<u>ヒドロキン</u>メチルセルロース約<u>1.6</u>~約<u>2.</u> 1 47
  - 6) 成業1g当たりTRITON X-100約1.3~約1.7mg、および
- 7) 試薬 10当たりグルタミン陸塩約0.3~約0.4ミリモル

#### からなる試革

ーターの験化型を含む反応から少なくとも1個の電子を受容するのに充分なタイ プであり、かつは飲尿定電気酸化によって生じる電流を作用電暴衰回での酸化剤 元メディエーターの表元型の酸化によって確実に限定するのに充分な量であり、

数音楽が特条、分析物、および散化進元メディエーターの酸化型を含む反応も 触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

**放棄術政が敗化電元メディエーターの電元型よりも高い酸化電位を有し、かつ** 鬱素、分析物、および酸化量元メディエーターの酸化原を含む反応を導業が触算 するp日を観仇し維持するのに充分なタイプおよび充分な様である

ことを特徴とする、作用電径、および、参照地径でない対電程を存し、かつ分析 物を創定する衝気化学的は世のための試象。

- 15. 試験がさらに、少なくとも1つのさらなる確実およびさらなら酸化療法 メディエークーからなる筋水項<u>!4</u>配度の試集。
- <u>」う。さらに、試集中で酸化速元/ディエーターを分散させるのに充分なタイ</u> プロよび充分な量の改結品性物質からなる効水項14位戦の試象。
- 17. さらに、分析物合有試料を設備させるのに充分なタイプおよび充分な量 の界面括性剤からなる糖水疾1.8 記載の試薬。
- 18. さらに、試験を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試案安定 別からなる諸京項17記載の民歌。
- 19.分析物がグルコースであり、酸化温元メディエーターの酸化型がヘキサ シアノ鉄(型)破略であり、緩衝液がリン酸塩であり、微粘温性特質が凝結品性セ ルロースおよび散結品性とドロキシメチルセルロースを含み、貯事がグルコース オキシダーゼであり、界面活性剤がノニオン界面活性剤であり、試薬安定剤がグ ルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースか らなる病から選択される結束項<u>18</u>記載の試棄。
- 2.0. a. 試祭1g当たりヘキサンアノ鉄(四)破塩的D、 3~約1.0ミリモ A:
- b. 試棄 } e当たりリン取塩酸衡液約<u>1.0</u>~約<u>1.3</u>ミリモル、
- c. 試典 1g当たりグルコースオキシダーゼ約<u>1,300</u>~約6<u>,800</u>単位;

からなそことを特徴とするグルコース分析装置。

#### 11. 36E.

- e. 作用電視および対域極と低気的に連結され、作用電磁の表面で酸化過元メ ディスーターの最元型の拡散限定電気酸化を生じるのに充分な電位差を作用電池 および対電極間に供給することができる意宜:ならびに
- 1. 作用電流および対電器と電気的に連絡し、作用電視表面での単化型ボメディ エーターの還元章の歌化によって生じる拡散限定電流を制定することができる計 量器

からなる環境項目に使の装置。

#### 12. 866.

- 6. 作用電視および対電性と電気的に連結され、作用電極の表面で硫化差元メ ディエーターの還元型の拡放程定電気酸化を生じるのに充分な電位差を存用電極 および対電域間に供給することかできる位置:ならびに
- f. 作用電板および対電板と高気的に連結し、作用電極表別での酸化量元メディ エーターの意元型の酸化によって生じる拡散限定電貨を創定することができる計 ₽ 包

からなる前求項「記載の繁星。

- 13. 第2年気絶棒体がさらに作用電視および対電極の一部を暴露するとらな る切欠部を含み、装置がさらに、
- e。さらなど切欠部で作用組織および対策値と電気的に連結され、かつ作用電 種の表面で酸化温元メディエーターの温元型の拡散限定常知酸化を生じるのに充 分な電位授を作用電報および対電機間に供給することができる電源;ならびに
- 1. 作用電振および対電極と電気的に連結し、作用電視表面での酸化超元メディ エーターの還元草の酸化によって生じる拡散保定電流を測定することができる計 步又

からなる請求項10記載の装置。

14. 酸化理元メディエーターの酸化型、酵素、および緩衝液からなり、 該際化速元メディエーターの酸化率が酵素、分析物、および酸化差元メディエ

- d. 試業1g当たり数結品性セルロース約<u>38</u>~約<u>48</u>mg;
- e. 延期1g当たり複数品性<u>ヒドロキシ</u>メチルセルロース約<u>1.6~</u>約2.1 xg
- f、 以来1s当たりTRITON X-10f約1,3~約1,7m;および
- g. 試象 1g当たりグルタミン単塩的0.8~約0.4ミリモル

からなることを特徴とする、作用電池、および、参照電機でない対電板を育し、 かつグルコースを利定する電気化学的装配のための状態。

21. a. 作用電磁、および、多限電極でない対域極の実質的に等しい表面 様を被覆し、かつ酸化基元メディエーターの酸化型、酵素、および最初液を含む 就是と液体を接触させ

[ここで、蘇化理元メディエーターの酸化型は酵素、分析物、および酸化運光メ ディエーターの液化型を含む技能から少なくとも1個の電子を受容するのに充分 なタイプであり、かつ拡散設定和気酸化によって生じた電流を作用電極表面での 改化電元メディエーターの電元型の酸化によって修実に限定するのに充分な量で Ab.

放射索は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を 他以するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該級高液に酸化過元メディエーターの超元型よりも高い液化能位を存し、かつ 群体、分析物、および欧化連元メディエーターの時代型を含む反応を確認が解析 するpllを提供し範疇するのに充分なテイブおよび充分な量である);

- h. 政部素、分析物、および放化量元メディエーターの酸化型を含む反応を完 Tatt:
- c. 次いで、作用電極の表面で貸化運元メディエーターの還元型の拡張形定置 気酸化を生じるのに充分な電位差を運搬場に印加し;
  - d、その後、生じる拡散限定型放を無定し:
- e. 放体中の分析物の適度と電流器定能を軌道させる
- 工程からなることを特徴とする液体中の分析物造度製造方法。 <u>12</u>. 試験がおらに、少なくとも1つのさらなる特殊およびさらなる層化電元

メディエ・ターを含む技术項21配数の方法。

1.3. 試運がきらに、試集中で強化産元メディスーターを分散させるのに充分 なタイプおよび充分な量の運転品性物質を含む着攻頂<u>2.1</u>配載の方法。

ます. 政業がさらに、

試験を実定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試験変更用を含む様求模 2.1配数の方法。

- 2.5. 分析物がグルコースであり、酸化辺元メディメーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(II)酸塩であり、緩衝液がリン酸塩であり、破結丛性物質が酸結過性セルロースおよび酸結過性セドロキシメテルセルロースを含み、除素がグルコースオキシグーゼであり、昇原活性剤がノニオン界面活性剤であり、試薬安定剤がゲルケミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースからはる鮮から選供される情味項2.4 記憶の方法。
- <u>2.6</u>、た。作用電極<u>、</u>および<u>、発配戦極でない</u>対電極の実質的に等しい表面 機を被覆し、かつ

武第 l p当たりヘキサシアノ鉄(ロ)股塩約<u>0.9</u>~約<u>1.0</u>ミリモル、

試禁 lg当たりリン酸塩硬板放約<u>1.0</u>~約<u>1.3</u>ミリモル、

試表 1 g当たりグルコースオキシゲービ約<u>1,300</u>~約<u>6,800</u>年位、

試験19当たり数結品性セルロース約38~約48四、

**以来 1**0当たり依怙屈住<u>ヒドロキシ</u>メチルセルロース的<u>1.6</u>~的<u>2.1</u> w。 および

試築 1y当たりグルタミン兼塩約0,3ー的0,4ミリモル を含む試車と確保を移動させ:

- b. 藤素、分析物、および酸化達元メディエーターの酸化却を含む反応を完了 させ:
- c. 次いで、作用電極の表面で酸化基元メディエーターの基元型の依戴限定電 気鬱化を生じるのに充分な策位差を配極間に印加し;
- e、作用電極あよび対電医と電気的に連絡され、作用電極の表面で重化電元メディエーターの酸化型の拡散限定電気変元を生じるのに更分な電位美を作用電極 あよび対電振問に改給することができる緊螂;ならびに
- 4. 作用電視および対電機と電気的に連結し、作用電報表面での酸化電元メディスーターの酸化型の電元によって生じる拡製限定量流を衝突することができる計量器

からなる請求項<u>27</u>記載の装置。

3.0. 段化ポ元メディエーターの超元型、啓素、および鉄衡減からなり、 核酸化超元メディエーターの週元型が辞集、分析物、および酸化超元メディエ ーターの超元型を含む収応から少なくとも1個の電子を執みするのに充分なタイプであり、かつ試験協定域気度化によって生じる電波を作用電電波面での酸化超 元メディエーターの酸化型の過元によって確実に限定するのに充分な量であり、

放酵素が酵素、分析物、および酸化運元メディエーナーの選元項を含む反応を 触載するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

就便衡度が發化電元メディエーターの設化型よりも低い超元尾位を行し、かつ 酵素、分析物、および酸化速元メディエーターの超元型を含む反応を除席が触過 するpII を提供し続持するのに充分なタイプおよび充分な量である

ことを特徴とする、作用電極<u>、および、参照電極でない</u>対電極を有し、かつ分析 物を測定する電気化学的装置のための試集。

31. + BC.

試料中で酸化端元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な 型の単結品性協覧;

分析物合行は料を温潤させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活化剤; および

試幕を安定させるのに完分なタイプおよび充分な量の以系安定制からなる請求 項3.0 に他の記念。

3.2. a. 作用項格、および、参照電配でない対電機の実質的に参しい表面 数を被覆し、かつ酸化理元メディエーターの違元型、研索、および抵射液を含む d. その後、生じる拡散限定電流を配定し;

c. 液体中のグルコースの速度を環境固定値に関連させる

工程からなることを特徴とする液体中のグルコース急症制定方法。

27. 4. 第1毫氮胞操件:

- b. 同一の考定性物質から作られ、かつ館」電気能解体上で支持される突質的 に同一の大きさの作用電極、および、<u>参照電極でない</u>対電極;
- c. 第;電気絶縁体おこび電板に上続りし、かつ作用管理および対電電の実質 内に尋しい表面相を起第する切欠相を含む第2電気能操体;および
- d. 列久部において暴露される電極表面を実質的に放覆し、かつ象化発元メディエーターの電元型、辞事、および政策度からなる試薬からなり、

政策化運元メディエーターの雇売数が財素、分析物、および酸化運元メディエ ーターの環元型を合む反応から少なくとも1億の電子を供与するのに充分なタイ プであり、かつ拡散附定電気運元によって生じる電波を作用電響表面での酸化量 元メディエーターの酸化型の運元によって確実に限定するのに充分な量であり、

鉄滑索が開業、分析物、および鉄化速元メディエーターの避元型を含む反応を 舷盤するのに充分なクイブおよび大分な量であり、

歌舞衝波が酸化返元メディエーターの酸化物よりも低い遠元電位を行し、かつ 映象、分析物、および酸化遠元メディエーターの違元域を含む反応を解放が敏端 するpHを提供し報告するのに充分なタイプおよび光分な量であることを特徴と する分析物分析用格量。

28. 20番がさらに、

製造中で象化組元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な 墨の森結晶性物質。

分析物合有は料を設備させるのに充分なタイプおよび充分な量の界価系性剤、 および

試験を決定させるのに充分はタイプなよび充分な量の試験実定剤からなる館域 項<u>2.7</u> 記載の装置。

28. 55E.

#### 以来と液体を接触させ

【ここで、酸化プラメディエーターの選択型は酸素、分析物、および酸化プラメディエーターの選光技を含む収応から少なくとも1個の電子を供与するのに変分なタイプであり、かつ拡散限定電気酸化によって生じた電流を作用電極表面での酸化プルメディエーターの酸化型の通元によって強実に限定するのに充分な量であり、

被衝素は好余、分析物、および酸化塩元メディエーケーの超元型を含む反応を 触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

- b. 政務未、分析物、および酸化還元メディエ・ターの還元型を含む反応を完 「させ:
- c. 次いで、作用電もの表面で使化電元メディエーターの硬化原の拡散限定用 気電元を生じるのに充分な電位差を電極間に向加し」
- d, その後、作じる拡散限定能流を設定し:
- e、液体中の分析物の能度と結論加定値を関連させる

工程からなることを特徴とする液体中の分析物濃度測定力法。

33. 試験がさらに、

以第4で後化速元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な 量の数格品性物質、

分析物含有は料を雇潤させるのに充分なタイプおよび充分な益の排回話性剤、 および

以菜を安定させるのに光分なタイプおよび充分な緑の以東を定用を含む降水項 3.2 記載の方法。

84. 4. 第1毫欠格群体;

b. 同一の準領社物質から作られ、かつ第1階気絶縁体上で支持されている作用職権をよび減作用職権よりも小さく、<u>倉房電視でない</u>対電額(

- c. 放第1種気能療体わよび放着座に上塗りし、作用電極よりも小さい対路極 の表面放を長期する切欠部を含む第2種気能線体: および
- で、む火むにおいて暴露された着無器がモ火質的に被覆し、かつ機化過元メディエーターの硬化型、降素、および試過液からなる試験からなり。

お替化型元メディエーターの酸化型が等素、分析物、および酸化型元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも「個の電子を受容するのに充分なタイプであり、かつ拡養限定域気酸化によって生じる電資を作用電気裏面での酸化型元メディエーターの過去型の酸化によって確実に限定するのに充分な量であり、

は酵素が原素、分析物および酸化速応メディエーターの酸化型を含む反応を触 薬するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

製練面液が健化器元メディエーターの塩元型よりも高い酸化電点を有し、かつ 厚葉、分析物、および酸化器元メディエ・ケーの酸化型を含む反応を原葉が触導 するpHを提供し程得するのに充分なタイプおよび充分な量であることを特徴と する分析物分析確認。

- 3.5. 以来がさらに、以來中で酸化速点メディエーケーを分散させるのに充分 なタイプおよび充分な量の旋結品性物質からなる詩必項3.4 記載の変層。
- 3 6. 試験がさらに、少なくとも1つのさらなる除業およびさらなる象化違元 ノディエーターからなる妨求項34記載の装置。
- 37. 作用電視および対電視の導像性物質がペラジウム、白土、土、線、チタン、編、および資素からなる群から遊覧される確求項34記載の装官。
- 38. 製薬がさらに、分析物含有試料を提開させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤からなる結束項35記載の装置。
- 39. 就郷がおらに、試謝を安定化させるのに充分なタイプおよび充分な乗の 試悪否定率からなる説象項<u>33</u>に数の装置。
- 40. 分析物がグルコースであり、酸化基元メディエーターの酸化型がヘキヤンアノ鉄(車)酸塩であり、酵素がグルコースオキシダーゼである請求項3人配数の物種。

するp日を提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量である);

- b. 政務本、分析物、および酸化基元メディエーターの酸化型を含む反応を充 了させ:
- c. 次いで、作用電極の表面で酸化葱元メディエーターの避元型の拡散限定型 気配化を生じるのに 化分な場位券を解検器に印加し:
- d. その後、生じる拡散限定電流を確定し:
- e. 液体中の分析的の適度と電波測定値を開達させる

工程からなることを特徴とする液体中の分析物濃度器定方法。

- 4.5. 試薬がちらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる酸化塩元メディエーターを含む薄求項14記載の方法。
- 4\_6. 試験がさらに、試算中で数化速元メディエーターも分散させるのに充分 なタイプもよび充分な母の環結系性物質を含む結束項4.4 配験の方法。
- 47. は悪がきらに、

試成との接触によって液体を温潤させるのに充分なタイプおよび支分な量の界面低性剤、および

は基を安定させるのに迄分はタイプおよび充分な象の試薬公定剤を含む請求項4.8 記載の方法。

- 48. 分析物がグルコースであり、酸化通元メディエーターの健化型がヘキサンアノ鉄(四)酸塩であり、酸制酸がリン酸塩であり、酸精晶性物質が酸結晶性セルロースおよび酸粧晶件<u>ヒドロキシ</u>メチルセルロースを含み、酵素がグルコースオキシダーゼであり、界面所性剤がノニオン界面活性剤であり、以需安定剤がグルクミン酸塩、アスパラギン装塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースからなる剤から選択される前水項<u>47</u>配載の方法。
- <u>19</u>. a. 第1電気動製体;
- b. 同一の場形供物質から作られ、かつ急1電気絶異体上で支持される作用電 概、および、数作用電極よりも小さい、参照示<u>をでない</u>対電艦。
- c. 第1 省気絶撃体および電磁に上陸りし、かつ作用電極よりも小さい対電極 の表面積を轟奪する切欠都を含む第2 電気絶縁体:および

- 4.1. 分析物がグルコースであり、酸化塩元メディエーターの製化でがヘキサシアノ鉄(ロ)酸塩であり、酵素がグルコースオキシダーゼである酵素項<u>8.5</u>配業の装置。
- 4.2. 分析物がグルコースであり、酸化環元メディエーターの酸化酸がヘキキシアノ快(ロ)酸塩であり、蒸酸酸がリン酸塩であり、酸抗農性物質が酸結晶性セルロースおよび酸枯品性ヒ<u>ドロキシ</u>メチルセルロースを含み、酵素がグルコース オキンダーゼであり、昇頭活性剤がノニオン界洒活性剤であり、以塞安定剤がグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーグキストラン、およびトレハロースからなる許から選択される体束項<u>3.5</u>記載の設置。

43. 366.

あり、

- e. 作用電極および対電器と電気的に適結され、かつ作用電解の表面で酸化速 元メディエーターの遠流型の拡散限定度気能化を応じるのに充分な電位差を作用 電極および対域整関に供給することができる電源;および
- f. 作用電極および対電極と電気的に連結し、かつ作用電極表面での酸化速元 メディエーターの過元率の酸化によって生じる拡散限定電波を測定することができる計成器

からなる情収項34足数の装置。

4.4. a. 作用電磁よりも小さい対電極の表面限を被覆し、かつ酸化量元メディエーターの酸化型、除業、および緩和液を含む試薬と放体を検討させ [ここで、酸化電元メディエーターの酸化型は誘索、分析物、および酸化塩元メディエーターの酸化型に対象を含む反比から少なくとも1個の電子を受害するのに充分なタイプでもり、かつ試食原定電気酸化によって生じた電流を作用電極表面での酸化量元メディエーターの選売室の酸化によって確実に限度するのに変分な量で

設断兼は対策、分析物、および酸化速元メディエーターの酸化型を含む反応を 数据するのに充分なタイプおよび充分な巻であり、

製機順級は強化運光メディエーターの記元型よりも高い度化銀位を有し、かつ 酵素、分析物、および酸化源元メディエーターの酸化型を含む反応を酵素が経緯

d. 切欠部において暴露される電極表面を突質的に被覆し、かつ酸化凝光メディ エーターの延元型、降水、および最衝波からなる試影からなり、

族酸化基元メディエーターの選元型が蘇素、分析的、および酸化基元メディエーターの基元型を含む反応から少なくとも (個の電子を供与するのに充分なタイプであり、かつ体数限定電気運元によって生じる環境を作用電医表面での酸化速元メディエーターの酸化剤の基元によって確定に限定するのに充分な量であり、

装削表が削集、分析物、および微化速元型メディエーターの差元型を含む反応 を連続するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

被数面核が酸化量元メディエーターの酸化物よりも低い超元素位を有し、かつ 脚本、分析物、および酸化理元メディエーターの電元型を含む反応を開来が触ば するp日を提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量であることを特徴と する分析物の析象量。

50. 試集がさらに、

は集中で酸化塩デメディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な 量の象納品生物質、

分析物含有試料を起鍵させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面析他剤、 および

試験を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の区別安定利からなる請求 項<u>4 9</u>配動の装置。

51. 86E.

- e. 作用電信および対電機と確認的に通信され、かつ作用電気の透向で成化量 元ノディエーナーの酸化型の拡散限定位気温元を生じるのに定分な端位差を作用 低価および対電振器に供給することができる情報;および
- 1. 作用電極および対策機と電気的に連結し、作用電極表面での機化値元メディ エーターの酸化型の過元によって生じるは質視定電流を創定することができる計 最終

からなる路水銀<u>49</u>記載の設度。

52. a. 作用電視よりも小さい<u>。参照電極でない</u>対電視の表面観を被覆し、

かつ酸化風元メディエーターの超元型、研究、および緩衝波を含む試影と強体を 接触させ

【ここで、酸化基元メディエーターの還元型は野禽、分析物、および酸化基元メディエーターの最元型を含む反応から少なくとも1個の電子を使与するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気基元によって生じる環境を作用電極疾症での酸化環の違元によって背災に限定するのに変分な量であり。

政事本は事素、分許物、および酸化混元メディエーターの運元型を含む放此を ・ 始謀するのに充分な量であり、

**敦建衡被は験化型元メディエーターの酸化型よりも低い超元率位を有し、かつ** 時末、分折物、および酸化型元メディエーターの量元型を含む反応を確全が勉強 するpHを提供し額許するのに充分なタイプおとび充分な量である」;

- b. 域野珠、分析物、および酸化速元メディエ・ターの夏元型を含む反応を完 了させ:
- c. 次いで、作用電管の表征で数化速元メディエーターの酸化或の基数假定電 気速元を生じるのに充分は略位売を電響間に印加し;
  - d. その後、生じる世教限定電流を創定し;
- e、液体中の分析物の最近と電抗制定値を開送させる

#### 工程からなる液体中の分析物器皮膚能方法。

#### 5.1. 放眠がきらに、

減級中で酸化塩元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な 最の機結晶性物質、

鉄型と接触させることによって数体を掲載させるのに光分なタイプおよび充分な量の界面活性科、および

試料を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試異安定剤からなる請求 項5.2 記載の方法。

# This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning Operations and is not part of the Official Record

# **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

□ BLACK BORDERS
 □ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
 □ FADED TEXT OR DRAWING
 □ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
 □ SKEWED/SLANTED IMAGES
 □ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
 □ GRAY SCALE DOCUMENTS
 □ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
 □ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

# IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

OTHER:

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.